



RAPPORT FEDER 93
CIRAD-EMVT-GUYANE
1993-1994

COMPTE-RENDU DE LA MISE EN PLACE DU
LABORATOIRE DE REFERENCE ET DU RESEAU
D'INFORMATION SUR LES HÉMOPARASITOSEs
DES GUYANES

Marc DESQUESNES
Stéphane de LA ROCQUE
CIRAD-EMVT-GUYANE
Institut Pasteur
BP 6010
97306 CAYENNE
GUYANE FRANCAISE

Juin 1994

| | |
|---|----|
| INTRODUCTION : | 3 |
| I MISSIONS DE RELATION ET DE FORMATION: | 5 |
| A) CIRAD-EMVT-GUYANE, IICA ET SERVICES VÉTÉRINAIRES GUYANA/ SURINAME..... | 5 |
| 1) SURINAME:..... | 5 |
| 2) GUYANA:..... | 6 |
| B) MISSIONS DE FORMATION | 7 |
| 1) GUYANA..... | 8 |
| 2) SURINAME..... | 8 |
| C) FORMATION DU PERSONNEL TECHNIQUE DU CIRAD-EMVT | 9 |
| 1) PERSONNEL TECHNIQUE DU CIRAD-EMVT-Guyane..... | 9 |
| 2) A L'UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES..... | 9 |
| 3) A L'ILRAD..... | 9 |
| a) Séminaire sur le diagnostic des trypanosomoses:..... | 10 |
| b) Infections expérimentales avec le <i>T. vivax</i> guyanais :..... | 10 |
| c) Formation aux techniques d'ACP :..... | 10 |
| d) Évaluation de la ACP pour le diagnostic du <i>T. vivax</i> guyanais: | 10 |
| f) Bilan:..... | 11 |
| II ENQUETES EPIDEMIOLOGIQUES DANS LES TROIS GUYANES..... | 11 |
| A) PRINCIPES GÉNÉRAUX | 11 |
| B) ÉCHANTILLONNAGE ET ANALYSE STATISTIQUE:..... | 12 |
| C) RÉSULTATS GÉNÉRAUX..... | 12 |
| D) RÉSULTATS PARASITOLOGIQUES..... | 13 |
| 1) TRYPANOSOMES :..... | 13 |
| 2) ANAPLASMES :..... | 13 |
| E) RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION DES DIAGNOSTICS SÉROLOGIQUES :..... | 13 |
| 1) TRYPANOSOMES :..... | 13 |
| a) Résultats par pays: | 13 |
| b) Interprétation:..... | 14 |
| 2) ANAPLASMES..... | 14 |
| a) Résultats par pays: | 14 |
| b) Interprétation:..... | 14 |
| III DISCUSSION SUR LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC :..... | 15 |
| A) REPRODUCTIBILITÉ DES TESTS :..... | 15 |
| 1) FROTTIS :..... | 15 |
| 2) CATT TEST :..... | 16 |
| 3) ELISA ANTIGENES:..... | 16 |
| B) SPÉCIFICITÉ ET SENSIBILITÉ DES TESTS :..... | 16 |
| 1) TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES CLASSIQUES: | 16 |
| a) Test de WOO:..... | 16 |
| b) Frottis: | 17 |
| 2) TECHNIQUES SÉROLOGIQUES:..... | 17 |
| a) Trypanosomes:..... | 17 |
| b) Anaplasmes:..... | 17 |
| 3) ACP: | 17 |
| IV RESEAU D'INFORMATION SUR LES HEMOPARASITOSEs DANS LES GUYANES: | 17 |
| A) FONCTIONNEMENT GÉNÉRAL : | 17 |
| 1) ACHEMINEMENTS DES ECHANTILLONS..... | 17 |
| 2) QUALITE DES PRELEVEMENTS | 18 |
| B) ACTIONS RÉALISÉES:..... | 18 |
| 1) TRADUCTION, DIFFUSION..... | 18 |
| 2) SÉMINAIRES: | 18 |
| a) Séminaire sur la détection des antigènes des trypanosomes par ELISA:..... | 18 |
| b) Séminaire d'épidémiologie:..... | 18 |
| VII CONCLUSIONS :..... | 18 |
| ANNEXES :..... | 20 |
| ANNEXE I : MÉTHODE GÉNÉRALE DES TESTS ELISA : | 20 |
| ANNEXE II : MÉTHODE DU CATT TEST:..... | 21 |

COMPTE-RENDU DE LA MISE EN PLACE DU LABORATOIRE DE REFERENCE ET DU RESEAU D'INFORMATION SUR LES HÉMOPARASIToses DES GUYANES EFFECTUÉE PAR LE CIRAD-EMVT-GUYANE DANS LE CADRE DU FEDER 1993.

PRÉLIMINAIRE :

Une aide financière du FEDER, au titre du Programme Opérationnel FEDER - Objectif 1-Région Guyane (sous le N° FEDER 90.03.09.004, sous programme 7, mesure 7.1, action 7.1.3), a été accordée au CIRAD-EMVT-Guyane, pour la mise en place d'un Laboratoire de Référence et d'un Réseau d'Information sur les Hémoparasitoses dans les Guyanes.

Les objectifs sont les suivants:

- faire du laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane un laboratoire de Référence qui recevra et analysera les échantillons provenant du bétail des trois Guyanes (hémoparasitoses uniquement);
- entreprendre une enquête épidémiologique sur les trypanosomoses, voire d'autres maladies du bétail, dans les trois Guyanes;
- former du personnel des Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname aux techniques de diagnostic parasitologique et sérologique;
- créer un Réseau d'Information sur les Hémoparasitoses dans les Guyanes, en liaison avec l'IICA, pour une meilleure connaissance de la situation épidémiologique dans les trois pays, et la diffusion de l'information.

Quelques modifications ont été apportées au projet initial:

- étant donnée la forte prévalence de cette parasitose en Guyane Française, l'enquête a été étendue à l'anaplasmose pour les trois pays;
- la collaboration avec les Services Vétérinaires Départementaux de Guyane Française a permis l'extension d'une partie des diagnostics à la Brucellose et à la Leucose bovine;
- les publications sur les vecteurs des hémoparasites (taons et tiques) qui avaient été rédigées au préalable par le CIRAD-EMVT-Guyane ont été traduites par l'IICA en Anglais pour une diffusion au Suriname et au Guyana. D'autres pays d'Amérique du Sud sont également ciblés par un projet de traduction en Espagnol.

Le programme a globalement été réalisé comme décrit dans la demande de financement.

Au terme de ces premiers travaux, le fonctionnement du Réseau d'Information a donné entière satisfaction, grace au dynamisme et aux compétences de notre correspondante IICA Suriname/Guyana, le Dr Sandra VOKATY (Vétérinaire épidémiologiste).

La collecte des échantillons au Guyana et au Suriname a posé certains problèmes (régularité, qualité, transport...), ainsi que les diagnostics effectués dans ces pays, confirmant la nécessité pressentie de comparer leurs résultats à ceux du Laboratoire de Référence. La formation du personnel devra être poursuivie et intensifiée.

L'IICA pour le Guyana et le Suriname a reçu le soutien financier du Fonds Interministériel de Coopération Caraïbe-Guyane, pour la réalisation de la partie du programme concernant ces pays.

La collaboration entreprise avec l'IICA est très prometteuse, son intensification et son extension à d'autres pays d'Amérique du Sud est prévue dans la prochaine proposition de programme présentée au FEDER.

La CEE a expressément émis le souhait que l'action du CIRAD-EMVT-Guyane soit reconduite pour la tranche 94-98, un programme sera en conséquence présenté pour cette période.

Une collaboration très étroite a été entreprise avec la spécialiste de santé animale de l'IICA, nous souhaitons exprimer toute notre gratitude au Dr Sandra VOKATY sans laquelle ce travail n'aurait pu être réalisé.

Nous sommes également très reconnaissants envers le Pr VAN MEIRVENNE qui a gracieusement fourni les réactifs (CATT Tests *T. evansi*) pour la réalisation de cette enquête dans les trois Guyanes.

Nous remercions vivement le Pr HAMMERS (ULB) pour son accueil lors de la formation du stagiaire de DEA de l'EMVT, le Dr P. GARDINER qui a organisé et coordonné la visite scientifique d'un agent de l'EMVT à l'ILRAD sur les techniques de diagnostic des trypanosomoses, et le Dr J. FAVRE, qui a bien voulu prendre en charge les diagnostics de brucellose et de leucose bovine, dans le cadre de notre enquête.

Enfin nous remercions les nombreux intervenants dans ce programme, aux Services vétérinaires des trois Guyanes et à l'IICA Guyana et Suriname.

Dr M. DESQUESNES
Responsable scientifique

INTRODUCTION :

Les hémoparasitoses, anaplasmose, babésioses et trypanosomoses, sont les principaux obstacles à l'élevage du bétail dans la région côtière nord de l'Amérique du Sud, notamment le Suriname, le Guyana et la Guyane Française. Ces trois maladies sont dues à des parasites du sang des ruminants, leurs vecteurs sont des arthropodes hématophages. Les babésioses sont essentiellement transmises par les tiques (surtout *Boophilus microplus*). L'anaplasmose est transmise par les tiques et les insectes piqueurs. Les trypanosomoses à *T. vivax* et *T. evansi* sont véhiculées par des insectes piqueurs, taons et stomoxes. L'anaplasmose et les babésioses provoquent fièvre, anémie, ictère, chute de poids et mortalité chez les ruminants. En Afrique, les trypanosomes sont transmis par les mouches Tsétsé; ils engendrent fièvre, anémie, chute de performance, avortement et mortalité chez les bovins, les moutons et les chèvres. L'épidémiologie et l'importance clinique des trypanosomoses en Amérique du sud sont moins bien connues. Quoi qu'il en soit, de la mortalité chez les bovins, des avortements et de la mortalité chez les moutons ont récemment été attribués à la trypanosomose à *T. vivax*, au Guyana et en Guyane Française.

L'enquête réalisée en 1990-1992 par le Laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane a fourni des taux de prévalence généralement élevés pour ces trois maladies: 73% pour *Babesia bigemina*, 62% pour *B. bovis*, 61% pour *Anaplasma marginale* et 37% pour *Trypanosoma* sp.¹. Les séroprévalences très élevées des anaplasmes et des babésies montrent une situation enzootique stable. La situation épidémiologique de la trypanosomose reste par contre assez obscure, car on observe des séroprévalences moyennes (37%) en l'absence totale de signes cliniques depuis 1989. Un complément d'étude de l'épidémiologie analytique a donc été entrepris.

Au Guyana et au Suriname, la situation épidémiologique au regard des hémoparasitoses est beaucoup moins bien connue, en particulier à cause du démantèlement partiel des Services Vétérinaires de ces pays. L'enquête initiée dans le cadre de ce programme permettra de mieux connaître la situation et de favoriser la formation du personnel technique de ces services.

Le laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane, à Cayenne, possède un environnement scientifique (Institut Pasteur), un équipement moderne, et une bonne expérience des techniques de diagnostic sérologiques pour les hémoparasitoses, notamment pour les techniques ELISA et Trapping-ELISA, et s'est doté récemment de techniques modernes de diagnostic par PCR. L'étude de l'épidémiologie analytique des hémoparasitoses du bétail a été entreprise en Guyane Française; il en résulte des mesures de contrôle des vecteurs et des hémoparasites. Le CIRAD-EMVT a établi des liens avec d'autres centres internationaux de recherche sur les hémoparasites parmi lesquels figurent:

- le Laboratoire International de Recherche sur les Maladies Animales (International Laboratory of Research on Animal Diseases: ILRAD) à Nairobi, Kenya;
- l'Université de Bristol, Royaume Uni;
- l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, Belgique;
- l'Université Libre de Bruxelles, Belgique.

La liaison de ces instituts de recherche prestigieux avec le Laboratoire de Référence des Hémoparasitoses des Guyanes assure un bon encadrement scientifique, la fourniture en réactifs ainsi que le transfert et la validation en Amérique du Sud des techniques de laboratoire développées en Afrique et en Europe.

1 1 DESQUESNES, M., LA ROCQUE, S.(de) & GOUREAU, L., 1993: Compte-rendu de l'enquête épidémiologique sur les hémoparasitoses bovines en Guyane Française (Trypanosomoses, Anaplasmose et Babésioses).....

D'autre part l'équipe du CIRAD-EMVT-Guyane mène des recherches sur les modes de lutte contre les hémoparasites, ainsi que leurs agents de transmission, en particulier les taons et les tiques. Des travaux de synthèse, déjà diffusés en Guyane Française, ont fait l'objet, grâce à la collaboration de l'IICA, de traduction et de diffusion dans les pays voisins rencontrant les mêmes problèmes sanitaires.

Le programme V de l'IICA, "Agricultural Health", est mandaté pour renforcer les Services de Santé Animale des gouvernements du Suriname et du Guyana, par le biais de projets nationaux de coopération technique. L'épidémiologiste basée à l'IICA, au Guyana, a établi des contacts entre le CIRAD-EMVT, en Guyane Française, et les vétérinaires travaillant sur les hémoparasitoses, au Guyana et au Suriname, pour faciliter l'échange des informations et une recherche collaborative. Des contacts ont été établis avec des chercheurs au Vénézuëla, au Kenya, en Belgique, ainsi qu'avec le groupe de l'Office International des Épizooties (OIE) sur les Trypanosomoses Animales Non Transmises par les Glossines (TANTG), à Paris.

Malgré leur proximité physique et leurs similarités climatologiques et géographiques, le Guyana, le Suriname et la Guyane Française n'ont jusqu'alors entretenu que de faibles relations, à cause des différences d'ordre linguistique, politiques, économiques et administratives. Pourtant, les maladies animales, en particulier celles transmises par les vecteurs, ne respectent pas ces frontières. Le long des rivières frontalières mal contrôlées, peu peuplées, il existe d'importants passages clandestins d'animaux, de marchandises et d'hommes. En conséquence, les professionnels de l'élevage des trois pays ont de nombreuses préoccupations communes, confrontent les mêmes problèmes et ont souvent les mêmes objectifs. La collaboration régionale et l'échange des informations sur le plan vétérinaire fournit une aide notable aux techniciens de l'élevage dans leur lutte pour améliorer la santé et la production animales.

I MISSIONS DE RELATION ET DE FORMATION:

A) MISSION DE RELATION AVEC L'IICA ET LES SERVICES VÉTÉRINAIRES DU GUYANA ET DU SURINAME

1) SURINAME:

Cette mission préliminaire (effectuée par M. DESQUESNES du 29 11 93 au 03 12 93) a été l'occasion de rencontrer tous les partenaires potentiels de l'opération et de prendre connaissance de la situation de l'élevage et des Services Vétérinaires au Suriname. L'ensemble des rencontres et visites s'est déroulé en la présence du Dr S. VOKATY, épidémiologiste de l'IICA, responsable en santé animale pour le Guyana et le Suriname, et du Dr APPLEWAITHE, responsable des Services Vétérinaires du Guyana.

Rencontres:

-Dr LIEUW-A-JOE, Deputy director for Animal Husbandry & health, Ministère de l'agriculture, en présence du Dr H. MUNOZ, spécialiste des productions animales de l'IICA au Suriname, et du Dr APPLEWAITHE. Les préliminaires concernant le projet de Laboratoire de Référence et de Réseau d'Information sur les Hémoparasitoses dans les Guyanes ont été posés. Le Dr LIEUW-A-JOE a suggéré que le réseau ne soit pas limité aux hémoparasitoses, et qu'il soit éventuellement étendu au Vénézuéla et la Colombie. La nécessité de mettre en place un laboratoire fonctionnel au Service Vétérinaire du Suriname est une priorité.

En tant qu'adjoint au Ministre de l'Agriculture et en tant que Responsable des Services Vétérinaires, le Dr LIEUW-A-JOE a donné son support entier à ce projet.

Il a demandé que la formation du personnel de laboratoire des Services Vétérinaires du Suriname soit assurée par une personne de l'EMVT. La même demande est faite par le Dr APPLEWAITHE pour le Guyana. Cette mission, prévue dans le cadre du financement FEDER, aura pour objectif de standardiser les techniques d'analyses parasitologiques dans les trois pays.

Pour la suite, il est prévu, si le financement est trouvé dans ces pays, que le personnel des laboratoires du Suriname et du Guyana séjourne au laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane pour des durées de 7 à 15 jours, afin de recevoir une formation aux techniques ELISA. D'autres missions de nos propres agents dans ces pays permettront de contrôler l'application de ces techniques sur place au Suriname et au Guyana.

Le Dr LIEUW-A-JOE et le Dr APPLEWAITHE ont insisté sur l'aspect formation du personnel et équipement du laboratoire. Ils ont signalé qu'aucun financement n'existait pour ces opérations.

-Mr P. BOILLOT, Ambassadeur de France; l'Ambassadeur donne son soutien et suggère qu'une demande de financement complémentaire sur fonds du FIC soit réalisée;

-Mr Roelf SMIT, Conseiller au Développement Rural de la CEE: Mr SMIT évoque les problèmes d'échanges commerciaux clandestins du bétail du Suriname vers la Guyane Française. Il est très favorable au libre échange entre ces pays, mais il n'ignore pas l'ampleur des difficultés pour obtenir de telles autorisations.

-Mr Finn DAMTOFT, Représentant de l'IICA au Suriname: les différentes possibilités de financement du projet pour le Suriname et le Guyana sont envisagées, par le FIC, par le CARIFORUM, ou directement par l'IICA.

Visites:

-laboratoires des Services Vétérinaires: ils sont vétustes et peu équipés. Le nécessaire aux examens parasitologiques classiques est toutefois disponible.

-abattoir de Paramaribo: il est vétuste et peu équipé. Aspects sanitaires très loin des exigences européennes. La collecte des échantillons est prévue à l'abattoir, les moyens d'action sur le terrain étant extrêmement limités, en particulier lors de notre passage, en raison de ruptures d'approvisionnement en carburant.

-ferme laitière : Ramnath farm (à Houttuin):

- ferme BABOENHOEL (district de Brokopondo) ferme d'état, 1300 têtes, zébu, sur 850 ha. Très grande hétérogénéité de l'état des animaux.
- ferme BIGIBATRA (district de Brokopondo);

BILAN:

Bien que le financement des opérations au Guyana et au Suriname ne fût pas encore identifié, il a été possible de commencer les travaux de récolte et d'examen parasitologiques. Pour ne pas retarder l'ensemble du projet, le CIRAD-EMVT-Guyane (sur le financement FEDER) et l'IICA (sur financements propres) ont fourni le minimum de matériel manquant et nécessaire à ces opérations.

L'ampleur de l'enquête et la suite du programme de formation et de diffusion des techniques de diagnostic dépendra ensuite des autres financements obtenus.

2) GUYANA:

Cette mission préliminaire (effectuée par M. DESQUESNES du 09 12 93 au 15 12 93) a été l'occasion de rencontrer tous les partenaires potentiels de l'opération et de prendre connaissance de la situation de l'élevage et des Services Vétérinaires au Guyana. L'ensemble des rencontres et visites s'est déroulé en la présence du Dr VOKATY et du Dr FAVRE, responsable de la santé animale en Guyane Française.

Rencontres:

- Jerry LA GRA, Représentant de l'IICA au Guyana;
- Mr Ranso HERRERA FRANCO, Responsable du CARIFORUM;
- le Dr APPLEWHAITE, Responsable des Services Vétérinaires du

Guyana. Cette rencontre a été l'occasion de visiter le laboratoire des Services Vétérinaires. Equipement: 2 microscopes, une centrifugeuse, un lecteur ELISA.

Personnel: une technicienne et un vétérinaire. La faible motivation du personnel sera probablement un obstacle à la bonne réalisation des opérations concernant les diagnostics parasitologiques qui doivent être effectués sur place.

- Mr P. SOOKRAJ, Ministre de l'Agriculture.

Visites:

-abattoir de Georgetown: le bâtiment et l'équipement sont vétustes, il n'y a pas de système de réfrigération et d'approvisionnement constant en eau. Les aspects sanitaires sont très loin des exigences européennes. La collecte des échantillons de sang lors de l'abattage des animaux est étudiée avec le vétérinaire responsable à l'abattoir.

-laboratoires de MON REPOS: ces laboratoires ont été financés par le Canada il y a environ 12 ans. L'activité a été stoppée il y a 3 ans, par désertion du personnel. Les locaux seraient très adaptés pour relancer une activité de diagnostic, ce qui tiendrait à cœur au Dr APPLEWHAITE; toutefois, ces laboratoires sont éloignés de Georgetown et la piste d'accès est difficilement praticable.

-"Stanislas College Farm & Dairy Management Training centre": c'est un centre production laitière et d'accueil et de formation permettant de recevoir une douzaine d'éleveurs;

-ferme laitière d'état: GUYSUCO LILIENDAAL (bovins et moutons): le modèle d'élevage des bovins laitiers de type Holstein X Créole hors-sol est réalisé grâce à un coût de main d'œuvre très bon marché.

- élevage de buffle à Georgetown;

-ferme laitière d'état: GUYSUCO VERSAILLES: cet élevage a connu des épisodes de babésiose et d'anaplasmose dans les trois dernières années. Il sera particulièrement intéressant d'analyser le statut immunitaire de ces animaux.

- exploitation laitière privée: FAIRFIELD INVESTMENTS;

-exploitation de moutons: CARDI Sheep production: cette exploitation a souffert de trypanosomose à *T. vivax* il y a environ 6 ans;

- exploitation de moutons: CARDI Sheep production: cette exploitation a souffert de trypanosomose à *T. vivax* il y a environ 6 ans;
- plusieurs exploitations familiales de moutons;
- ferme production de viande zébu LIDCO Goldigging/Kabawer;
- une laiterie à Georgetown.

BILAN:

Cette mission a été l'occasion de prendre connaissance des données générales de l'élevage et de l'économie au Guyana. Les techniques d'élevage hors sol sont très développées, et l'élevage laitier domine dans la région de Georgetown.

Les données pathologiques enregistrées au cours des visites montrent une grande importance du déparasitage interne qui n'est pas toujours réalisé dans les fermes privées, faute de produits de traitements. Dans les fermes d'état, des produits modernes sont utilisés (ivermectine).

Concernant la pathologie due aux hémoparasitoses, il semble qu'il y ait eu dans le passé, comme en Guyane Française et au Suriname, des épisodes de trypanosomose, mais rien ne permet de penser qu'elle sévit actuellement dans les régions et élevages visités. La région du Rupununi n'a pu être visitée à cette occasion par manque de temps, cette visite sera réalisée lors d'une prochaine mission de plus longue durée, qui permettra d'effectuer des diagnostics dans cette région d'élevage mitoyenne du Vénézuéla, où sévissent les trypanosomoses à *T. vivax* et *T. evansi*.

Les demandes de financement pour le projet de Réseau d'Information sur les Hémoparasitoses dans les Guyanes ont été finalisées avec le Dr VOKATY:

-FIC: la demande de financement faite par l'IICA comporte les aspects information et formation du personnel aux techniques de diagnostic (séjour du personnel technique du Guyana et du Suriname au laboratoire de l'EMVT à Cayenne); mentionnons que cette demande a abouti favorablement;

-CARIFORUM: la demande de financement faite par l'IICA comporte l'équipement et le fonctionnement des laboratoires des Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname pour la réalisation de diagnostics par méthodes ELISA.

La standardisation des méthodes de diagnostic parasitologique et de la lecture du CATT Test a été réalisée lors d'une mission d'un agent de l'EMVT-Guyane courant février. L'ensemble de ces missions avait pour objectif de renforcer les liens avec les partenaires de ces pays, d'assurer une bonne standardisation des techniques de diagnostic et une motivation des agents techniques des Services Vétérinaires des deux pays.

Bien que les financements ne fussent pas encore assurés, les travaux de récolte et d'examen parasitologiques ont débuté avec le support financier partiel de l'IICA et de l'EMVT pour le petit matériel nécessaire à la réalisation de ces diagnostics. L'ampleur de l'enquête et la suite du programme de formation et de diffusion des techniques de diagnostic dépendra ensuite du financement CARIFORUM.

B) MISSIONS DE FORMATION

Le CIRAD-EMVT a assuré une formation destinée aux techniciens et vétérinaires du Surinam et du Guyana intervenant dans ce projet, au cours de missions d'une semaine (effectuées par S. de LA ROCQUE) dans chacun des pays. Les objectifs de cette formation étaient de mettre en place la collecte, l'échantillonnage et le conditionnement des prélèvements, ainsi que la saisie des données et l'utilisation des fiches de renseignements épidémiologiques, de standardiser les techniques de diagnostic parasitologique (frottis sanguins, examen de l'interface de tube capillaires) entre les différents laboratoires, et de former les agents locaux à la réalisation et à la lecture du CATT-Test.

La mission s'est déroulée du 4 au 12 février 1994. L'accueil et l'appui logistique ont été fournis par le Dr S.VOKATY, épidémiologiste de l'IICA et responsable du projet Réseau d'Information sur les Hémoparasitoses dans les Guyanes. La formation s'est déroulée dans un laboratoire de la Faculté de Médecine de Georgetown.

Le Dr APPLEWHAITE, Directeur des Services Vétérinaires, nous a présenté aux différents participants, et a organisé leur emploi du temps pour leur permettre de suivre la formation.

Les personnes suivantes ont suivi à temps plein cette formation:

Miss SHARON BURCH-SMITH, Mr. COLIN PETERS, Mr. IVOR MENDONCA (Livestock Assistants), Mr. RENNIE MAZIER (Technicien, Hopital de Georgetown), les Drs JAMAL MOHAMMED, TROTZ WILLIAMS, NOEL FIELDS, MARK PIERRE, JOSUA DA SILVA et le Dr MAXINE PARRIS-AARON (Veterinary officers), coordinateur local de l'enquête.

Des échantillons prélevés à l'abattoir le matin permettaient de disposer de matériel frais, sur lequel nous avons effectué le test de WOO (examen de l'interface plasma cellules de sang centrifugé en tubes capillaires pour la recherche de trypanosomes) et des frottis sanguins. La coloration des frottis était réalisée grâce à un kit de colorants amené de Guyane Française; leur lecture a permis de mettre en évidence les hémoparasites communs dans ces pays, en particulier *Anaplasma marginale*.

D'autre part, nous avons réalisé une inoculation expérimentale à un cobaye avec un cryostabilat de *Trypanosoma evansi* apporté de Cayenne; cette inoculation a permis d'examiner des trypanosomes vivants directement entre lames et lamelles puis en réalisant le test de WOO, et de présenter les principaux critères d'identification spécifiques des parasites. D'autre part, nous avons mis en évidence *Trypanosoma vivax* parmi les échantillons de sang frais provenant de l'abattoir, et nous avons alors pu le comparer à *T.evansi*.

Présentation du CATT Test (test de détection des anticorps dirigés contre *T. evansi*): la réalisation du test et sa lecture ont été décrites, afin que les laboratoires soient en mesure de les effectuer sur place.

Ont également été décrites les méthodes de conditionnement et de conservation des échantillons prélevés, afin qu'ils puissent être conservés sur place ou envoyés à Cayenne. La saisie des données est effectuée sur des dossiers standardisés qui séparent les informations concernant les résultats de laboratoire de celles relatives aux animaux prélevés. Ces dossiers accompagnent les échantillons régulièrement expédiés.

Le niveau des connaissances et les aptitudes au travail de laboratoire sont apparus très hétérogènes. Les participants ont néanmoins manifesté un intérêt certain, et les responsables locaux de l'enquête se sont révélés fiables.

Le statut administratif des agents locaux représente un risque pour la pérennité de l'enquête. En effet les vétérinaires sont redevables de leurs études au gouvernement du Guyana, et doivent travailler au sein des Services Vétérinaires dans des conditions financières précaires. L'enquête épidémiologique apparaît à certains comme un surcroît de travail sans avantage financier.

Les moyens matériels sont faibles, voire nuls, et seules des techniques simples peuvent être utilisées sur place. En particulier le laboratoire manque d'un bon microscope, et le petit matériel doit être fourni.

2) SURINAME

La mission s'est déroulée du 12 au 19 février. L'accueil et le soutien logistique ont été assurés par le Dr H.MUNOZ, spécialiste des Productions Animales à l'IICA. La formation a été donnée dans le laboratoire des Services Vétérinaires sur le site de l'abattoir de Paramaribo.

Les personnes ayant participé à temps plein à cette formation sont: Mrs MARIJKE CALENDER et Mrs RENE HERMELIJN (techniciennes des Services Vétérinaires), Dr LEONTINE BANSE, vétérinaire des Services Vétérinaires, et coordinateur local de l'enquête.

Des échantillons sanguins ont été prélevés le matin à l'abattoir afin de disposer de matériel frais. Les techniques présentées sont les mêmes que celles décrites pour le Guyana. Nous n'avons malheureusement pas pu mettre en évidence de trypanosomes lors de nos examens.

Tous ces agents ont une formation de base de laboratoire, mais peu de connaissances sur les parasites sanguins.

Le statut des agents locaux est comparables à celui décrit au Guyana. Là encore se pose un problème de motivation, essentiellement pour les techniciens.

Le laboratoire est fonctionnel, et les moyens techniques existent, mais sont souvent sous-exploités. Les produits consommables s'entassent et se périment. Il convient donc pour cette enquête de bien identifier le matériel spécifique, et de limiter l'approvisionnement au strict nécessaire.

C) FORMATION DU PERSONNEL TECHNIQUE DU CIRAD-EMVT

1) PERSONNEL TECHNIQUE DU CIRAD-EMVT-Guyane

Le personnel recruté au laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane dans le cadre de ce programme est le suivant:

Mr A. DEMARTY, VAT vétérinaire;

Mr J. ISSALY, technicien terrain et laboratoire;

Melle M. BOCQUET, technicienne de laboratoire;

ces personnes ont été formées aux diagnostics parasitologique et sérologiques pour la réalisation de cette enquête.

Mr S. de LA ROCQUE, stagiaire de DEA de Parasitologie et Mr M. DESQUESNES responsable scientifique du programme ont assuré leur formation.

2) A L'UNIVERSITÉ LIBRE DE BRUXELLES

Afin d'acquérir les connaissances nécessaires à l'utilisation de nouveaux outils de diagnostic, le stagiaire du DEA de Parasitologie a effectué un séjour de trois semaines au laboratoire du département de Biologie Moléculaire de l'Université Libre de Bruxelles (Rhode St. Genèse, Belgique), sous la direction du Professeur Hamers.

Le stage a permis une bonne initiation aux techniques de biologie moléculaire pouvant être utilisées pour le diagnostic des trypanosomoses, notamment l'Amplification en Chaînes par Polymérase (ACP). Cette technique est spécifique, et devrait être plus sensible que celles utilisées jusqu'à présent. Elle a également l'avantage de mettre en évidence la présence du parasite, alors que les tests de détection des anticorps ne renseignent que sur l'existence d'un contact, éventuellement antérieur.

Les chercheurs de ce laboratoire ont mis au point des amorces d'ADN permettant de mettre en évidence *Trypanosoma evansi*. Après une étude bibliographique des essais ont été réalisés avec des animaux expérimentalement infectés. La technique sera adaptée aux échantillons de bovins en vue d'une application dans le cadre de l'enquête.

Lors de ce séjour en Belgique, nous avons également renforcés nos liens avec l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (laboratoire de sérologie du professeur VAN MEIRVENNE), qui a fourni les réactifs du CATT Test destinés aux laboratoires du Surinam, du Guyana et de Guyane française.

3) A L'ILRAD

Le laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane est en relation étroite avec le Laboratoire International de Recherche sur les Maladies Animales (ILRAD, Nairobi, Kenya), depuis 4 ans, pour la formation du personnel technique de l'EMVT aux diagnostics des hémoparasitoses, l'approvisionnement en réactifs, et l'évaluation de ces tests en Amérique du Sud.

Cette collaboration a été poursuivie dans le cadre du programme FEDER, avec un séjour de M. DESQUESNES pendant 2,5 mois à l'ILRAD, en tant que visiteur scientifique. Cette mission a fait l'objet d'un rapport complet. Les éléments suivants ne sont qu'un résumé des activités en liaison avec le programme actuel.

a) Séminaire sur le diagnostic des trypanosomoses:

Ce séminaire (7-11 février 94) organisé par la FAO/IAEA (Dr J. DARGI) a été l'occasion de partager avec les chercheurs africains les résultats parfois surprenants obtenus avec les tests de détection des antigènes par ELISA, mis au point à l'ILRAD par le Dr V. NANTULYA.

La spécificité et la sensibilité des tests est remise en question par les résultats obtenus en Guyane Française et au Burkina-Faso, par les équipes de l'EMVT.

b) Infections expérimentales avec le *T. vivax* guyanais :

Ces travaux (février-mars 94) ont permis de confirmer les résultats obtenus en Guyane Française, à savoir l'absence de spécificité des tests de détection des antigènes de *T. congolense* et de *T. brucei* vis à vis de la souche guyanaise du *T. vivax*, et la très faible sensibilité du test de détection des antigènes de *T. vivax* pour cette même souche. De nouvelles techniques sont donc nécessaires pour le diagnostic des trypanosomoses en Amérique du Sud.

Ces travaux auront probablement des conséquences importantes sur le diagnostic des trypanosomoses en Afrique, Asie et Amérique du Sud.

c) Formation aux techniques d'ACP :

Ces techniques modernes de diagnostic (PCR: Polymerase Chain Reaction, ou, en français, ACP: Amplification en Chaîne par Polymérase) sont réputées sensibles et spécifiques. Une formation complète sur ces techniques a été reçue. Divers types de réactifs ("primers") ont été utilisés pour la détection de *T. vivax* et de *T. evansi*.

d) Évaluation de la ACP pour le diagnostic du *T. vivax* guyanais:

Pour la première fois, et à titre expérimental, ces techniques étaient appliquées au diagnostic sur sérum. Les résultats ont été satisfaisants, la spécificité n'a pas été mise en défaut, et la sensibilité a été comparable à celle des techniques parasitologiques classiques. La méthode sera modifiée en vue d'améliorer la sensibilité du test.

Les réactifs utilisés ont donné satisfaction et seront employés pour le diagnostic au Laboratoire de Référence. Cette nouvelle technique permettra un parfait contrôle des résultats obtenus en parasitologie et sérologie dans le cadre de l'enquête épidémiologique sur les trois guyanes.

e) Isolement de parasites (*T. vivax* guyanais)

Un stock important de parasites a été isolé à partir de bovins infectés pour pourvoir aux besoins croissants du laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane. Des réactifs (extraits d'antigènes parasitaires) seront préparés pour les tests de détection des anticorps de *Trypanosoma sp.* par ELISA.

Ces réactifs seront utilisés dans le cadre de l'enquête sur les hémoparasitoses dans les trois Guyanes.

Ces réactifs seront utilisés dans le cadre de l'enquête sur les hémoparasitoses dans les trois Guyanes.

f) Bilan:

La collaboration avec l'ILRAD sera poursuivie afin d'assurer un lien solide entre chercheurs africains et sud américains, avec les bénéfices suivants:

Pour l'ILRAD, l'avantage d'avoir un flux continu d'information sur l'évaluation des kits de diagnostic mis au point en Afrique et éprouvés en Amérique du Sud.

Pour le CIRAD-EMVT-Guyane, formation technique des agents, recherche collaborative dans un centre où la qualité de l'environnement scientifique est excellente, et approvisionnement en réactifs non commercialisés.

Sur cette base, les propositions de collaborations ont été renouvelées.

II ENQUETES EPIDEMIOLOGIQUES DANS LES TROIS GUYANES

A) PRINCIPES GÉNÉRAUX

En Guyane Française les échantillons de sang sont collectés dans les élevages, par les Services Vétérinaires dans le cadre de la prophylaxie de la brucellose, ou directement par les agents du CIRAD-EMVT.

Au Guyana et au Suriname, les échantillons de sang sont récoltés à l'abattoir par les agents des Services Vétérinaires.

Le sang a été collecté sur héparine, en vue de réaliser les diagnostics parasitologiques, et sur tubes secs, pour la sérologie.

Dans tous les cas, l'examen parasitologique direct (test de WOO) est effectué dans les heures qui suivent le prélèvement. Deux frottis sont préparés.

Les sérums sont ensuite répartis dans deux sérothèques, une destinée à rester dans le pays d'origine (Guyana ou Suriname), l'autre envoyée avec les commémoratifs en Guyane française.

La lecture des frottis et la réalisation du CATT Test sont effectuées une première fois dans le pays d'origine.

Les échantillons (frottis, sérums et commémoratifs) sont acheminés sous froid, par voie aérienne, vers le Laboratoire de Référence, où ils sont conservés pour constituer une sérothèque (banque de sérum).

Au laboratoire de Cayenne, l'examen des frottis sanguins et le CATT Test sont de nouveau réalisés, afin de juger de la validité des résultats et de la répétabilité des tests. Les échantillons sont donc analysés comme suit:

-lecture du frottis sanguin (recherche d'anaplasmes, babésies et trypanosomes);

- test ELISA de détection des anticorps de *Trypanosoma sp.* ;
- test ELISA de détection des antigènes de *Trypanosoma sp.* ;
- test ELISA de détection des antigènes d'*Anaplasma marginale* ;
- CATT Test, test de détection des anticorps de *T. evansi*.

L'ensemble des Kits ELISA a été fourni par l'ILRAD. Une méthode générale est décrite en Annexe I (détection des antigènes d'*Anaplasma marginale*).

Le CATT Test a été fourni par l'IMT.

Le Service Vétérinaire Départemental a participé à cette enquête en réalisant les tests de dépistage de la Brucellose et de la Leucose Bovine sur une partie des échantillons:

- Card Test, test de détection de la brucellose bovine (EAT Rose Bengale);
- test ELISA de détection de la Leucose Bovine.

Les résultats obtenus sont enregistrés, analysés et communiqués aux pays d'origine.

B) ÉCHANTILLONNAGE ET ANALYSE STATISTIQUE:

L'échantillonnage réalisé au Guyana et au Suriname a été fait en sélectionnant les animaux au hasard, lors de leur passage à l'abattoir. Le nombre d'échantillon testé n'a pas encore de caractère représentatif de la population bovine de ces pays, mais il donne une indication sur les prévalences des infections étudiées. Un échantillonnage plus important et représentatif sera entrepris dans les années suivantes.

L'échantillonnage réalisé en Guyane Française n'est pas représentatif de l'ensemble du cheptel bovin, une enquête préalable ayant déjà fourni ces informations (voir rapport CORDET 91-92 CIRAD-EMVT-Guyane); il a cette fois été orienté vers des élevages à caractère particulier: élevages de bétail importé de métropole, et élevages de la zone frontalière du Brésil (St Georges).

L'essentiel de l'analyse épidémiologique (étude statistique des variations liées aux paramètres enregistrés) sera réalisé par le Dr S. VOKATY et publié ultérieurement.

C) RÉSULTATS GÉNÉRAUX

Les résultats généraux sont ceux obtenus au Laboratoire de Référence (CIRAD-EMVT-Guyane); les résultats obtenus dans les laboratoires des Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname seront présentés et discutés dans le paragraphe III (DISCUSSION SUR LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC).

L'ensemble des résultats aux tests est présenté dans un tableau, où, pour chaque pays et pour chaque test, figurent le nombre d'animaux testés (N), le nombre de résultats positifs (P) et le pourcentage correspondant (%).

| | GUYANE FRANCAISE | | | SURINAME | | | GUYANA | | |
|---|------------------|-----|--------|----------|-----|--------|--------|-----|--------|
| | N | P | % | N | P | % | N | P | % |
| Test de WOO | 507 | 13 | 2,56% | 580 | 5 | 0,86% | 294 | 10 | 3,40% |
| recherche de trypanosomes sur frottis | 469 | 0 | 0,00% | 345 | 0 | 0,00% | 310 | 3 | 0,97% |
| ELISA détection d'antigènes de Tryp sp. | 508 | 102 | 20,08% | 594 | 160 | 26,94% | 438 | 138 | 31,51% |
| prévalence inf | 508 | 114 | 22,44% | 594 | 186 | 31,31% | 438 | 143 | 32,65% |
| CATT Test | 79 | 44 | 55,70% | 341 | 64 | 18,77% | 435 | 168 | 38,62% |
| ELISA détection d'anticorps de Tryp sp. | 508 | 33 | 6,50% | 594 | 220 | 37,04% | 438 | 202 | 46,12% |
| prévalence totale | 508 | 143 | 28,15% | 594 | 314 | 52,86% | 438 | 303 | 69,18% |
| recherche d'anaplasmes frottis | 469 | 106 | 22,60% | 259 | 131 | 50,58% | 308 | 78 | 25,32% |
| ELISA détection d'Ag d'A marginale | 508 | 173 | 34,06% | 587 | 299 | 50,94% | 438 | 225 | 51,37% |
| prévalence totale | 508 | 239 | 47,05% | 587 | 398 | 67,80% | 438 | 268 | 61,19% |
| Brucellose | / | / | / | 67 | 67 | 0% | 438 | 0 | 0% |
| Leucose Bovine | / | / | / | / | / | / | 77 | 32 | 42% |

D) RÉSULTATS PARASITOLOGIQUES

1) TRYPANOSOMES :

Test de WOO: des trypanosomes ont été observés dans 28 échantillons sur 1381 (soit 2%), sans relation évidente avec les résultats sérologiques lorsqu'il ne s'agissait pas de *T. vivax*. Dans la majorité des cas il s'agissait vraisemblablement de *Megatrypanum species*.

Le détail par pays est indiqué au tableau suivant:

| pays | Guyane Française | | | Suriname | | | Guyana | | |
|--------------|------------------|----------|------|----------|----------|------|--------|----------|------|
| trypanosomes | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % |
| WOO | 507 | 13 | 2,50 | 580 | 5 | 0,80 | 294 | 10 | 3,40 |

L'examen des tubes à hématocrite a révélé la présence de:

- Megatrypanum species*, supposé être *Trypanosoma theileri*;
- trypanosomes non identifiés, peu nombreux (jamais plus de 1 à 7 trypanosomes par tube à hématocrite);
- nombreux trypanosomes identifiés sur frottis comme *T. vivax*.

Aucun *T. evansi* n'a été observé sur ces prélèvements.

Frottis: 4 échantillons positifs ont été détectés sur l'ensemble des tests. Dans tous les cas il s'agissait de *T. vivax* et les échantillons provenaient du Guyana.

2) ANAPLASMES :

Les recherches d'anaplasmes ont montré que 315 frottis étaient positifs sur les 1036 observés, soit 30,4% d'animaux infectés. Ce chiffre relativement bas reflète la faible sensibilité de cette technique lorsque les parasitémiés des animaux sont peu élevées.

Le détail des résultats par pays est indiqué au tableau suivant:

| pays | Guyane Française | | | Suriname | | | Guyana | | |
|-----------|------------------|----------|-------|----------|----------|-------|--------|----------|-------|
| | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % |
| Anaplasma | 469 | 106 | 22,60 | 259 | 131 | 50,60 | 308 | 78 | 25,30 |

E) RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION DES DIAGNOSTICS SÉROLOGIQUES :

1) TRYPANOSOMES :

a) Résultats par pays:

Les résultats de la détection des anticorps de *Trypanosoma sp.* sont indiqués au tableau suivant, où sont rappelés ceux obtenus en parasitologie, ainsi que la totalité des animaux positifs à l'un au moins des tests (prévalence de l'infection):

| pays | Guyane Française | | | Suriname | | | Guyana | | |
|----------------|------------------|----------|-------|----------|----------|-------|--------|----------|-------|
| TRYPANOSOMES | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % |
| CATT Test | 79 | 44 | 55,70 | 341 | 64 | 18,7 | 435 | 168 | 38,6 |
| ELISA AC | 508 | 33 | 6,40 | 594 | 220 | 37,03 | 438 | 202 | 46,1 |
| ELISA Ag | 508 | 102 | 20,08 | 594 | 160 | 27,00 | 438 | 138 | 31,50 |
| total positifs | 508 | 143 | 28,15 | 594 | 314 | 52,86 | 438 | 303 | 69,18 |

b) Interprétation:

Le cas de *Trypanosoma vivax*:

Les réponses positives aux tests de détection des anticorps dirigés contre *T. vivax* en Guyane Française sont probablement dues à des infections passées. Il n'a pas été possible de mettre en évidence le germe depuis plusieurs années. Il n'est toutefois pas exclu que *T. vivax* circule encore à bas bruit dans le bétail guyanais, sous forme d'épizooties inapparentes.

Au Suriname et au Guyana, la prévalence des anticorps est nettement plus élevée qu'en Guyane Française. La séroprévalence enregistrée au Suriname témoigne d'une circulation active des trypanosomes, actuelle ou d'un passé récent. Au Guyana, le parasite a été rencontré au cours de cette enquête, sa présence est donc confirmée, révélant probablement un état enzootique de certaines régions du pays. L'enquête à venir permettra de déterminer dans quelle mesure cette enzootie est étendue au Guyana, voire au Suriname.

Le cas de *Trypanosoma evansi* :

La présence de *T. evansi* en Guyane a été soupçonnée il y a plusieurs années, mais n'a jamais été confirmée. De nombreux essais d'isolement de *Trypanosoma evansi* sur souris C3H sont restés infructueux. De même les essais d'isolement à partir de sang de Pécaris (hôte plus probable que le bétail) sont restés infructueux. Aucun signe clinique de cette maladie n'ayant jamais été signalé en Guyane Française, la présence de *T. evansi* est très peu probable.

De même, à ce stade de l'enquête, aucun résultat ne permet d'affirmer que *T. evansi* est présent au Suriname.

En revanche, les observations de terrain font soupçonner la présence de ce parasite au Guyana, en particulier dans le région du RUPUNUNI. Des prélèvements seront effectués dan cette zone d'élevage mitoyenne du Vénézuéla (zone réputée enzootique pour *T. evansi*) lors de la prochaine partie de ce programme.

2) ANAPLASMES

a) Résultats par pays:

Les résultats de la détection des antigènes d'*Anaplasma marginale* sont indiqués au tableau suivant, où sont rappelés ceux obtenus en parasitologie, ainsi que la totalité des animaux positifs à l'un au moins des tests (prévalence de l'infection):

| pays | Guyane Française | | | Suriname | | | Guyana | | |
|----------------|------------------|----------|-------|----------|----------|-------|--------|----------|-------|
| ANAPLASMES | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % | nombre | positifs | % |
| frottis | 469 | 106 | 22,60 | 259 | 131 | 50,6 | 308 | 78 | 25,3 |
| ELISA Ag | 508 | 173 | 34,06 | 587 | 299 | 50,94 | 438 | 225 | 51,4 |
| total positifs | 508 | 239 | 47,05 | 587 | 398 | 67,80 | 438 | 268 | 61,19 |

b) Interprétation:

Il a été montré lors de la précédente enquête que l'anaplasmose est enzootique dans la quasi totalité des élevages de Guyane Française; les élevages sondés au cours de la présente enquête ont également révélé de fortes prévalences de l'infection; il a notamment été observé des infections précoces du bétail importé de métropole. Un des élevages présente toutefois une prévalence faible (bétail importé et isolé), ce qui

abaisse la prévalence globale de la Guyane Française à 47%. La zone de St Georges ne présente pas de différence avec l'ensemble de la Guyane sur ce point.

Au Suriname et au Guyana les taux d'infection révèlent un état enzootique, avec des résultats souvent positifs en parasitologie, ce qui témoigne de parasitémies plus élevées qu'en Guyane Française. Ce fait est probablement lié à la présence de bétail laitier de type européen, plus sensible, plus éprouvé et ne recevant pas de prophylaxie et peu de traitements.

III DISCUSSION SUR LES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC :

A) REPRODUCTIBILITÉ DES TESTS :

Le tableau suivant indique les résultats obtenus dans les laboratoires des pays d'origine, en comparaison avec ceux obtenus au Laboratoire de Référence, pour les mêmes échantillons.

| | | SURINAME | | GUYANA | |
|---------------------------------------|---|------------------------|----------------------------------|------------------------|----------------------------------|
| | | Dans le pays d'origine | Dans le laboratoire de référence | Dans le pays d'origine | Dans le laboratoire de référence |
| recherche de trypanosomes sur frottis | N | 345 | 345 | / | 310 |
| | P | 1 | 0 | / | 3 |
| | % | 0,29% | 0,00% | / | 0,97% |
| CATT Test | N | 341 | 341 | 297 | 297 |
| | P | 63 | 64 | 133 | 146 |
| | % | 18,48% | 18,77% | 44,8% | 49,2% |
| recherche d'anaplasmes sur frottis | N | 199 | 199 | / | 308 |
| | P | 8 | 94 | / | 78 |
| | % | 4,02% | 47,24% | / | 25,32% |

1) FROTTIS :

Les frottis ont été réalisés en deux exemplaires, dont l'un devait être lu dans le pays d'origine (Suriname ou Guyana), l'autre au Laboratoire de Référence. Pour des raisons diverses, la lecture des frottis n'a pas été faite au Guyana; ces frottis ont donc été lus uniquement en Guyane Française, ce qui ne nous permettra pas d'évaluer la capacité diagnostique des techniciens du Guyana.

Au Suriname, les lectures ont été faites normalement, les résultats obtenus ont montré une forte variation de la lecture des frottis entre les laboratoires. Ainsi, pour l'anaplasmose, les prévalence varient de 10% (lecture faite au Suriname) à 50% (lecture faite à l'EMVT-Guyane). La spécificité du test est la même dans les deux laboratoires (les résultats positifs au Suriname le sont également en Guyane Française), mais la sensibilité subit un très fort "effet technicien". La standardisation de la technique de lecture sera à nouveau réalisée dans la suite de ce programme.

Pour les trypanosomes, un frottis a été diagnostiqué positif au Suriname, une lecture attentive et répétée au Laboratoire de Référence n'a permis que de constater la présence de très abondants artéfacts (frottis comportant de nombreuses traces de colorant).

Il apparaît donc que la lecture des frottis, examen parasitologique de base, fournit des résultats extrêmement variables selon le technicien. Une meilleure standardisation de la technique de lecture, mais surtout une plus grande motivation apparaît nécessaire pour que la qualité des examens soit améliorée.

2) CATT TEST :

Le principe de lecture du CATT Test est relativement subjectif, puisque sont considérés comme positifs les échantillons dont l'agglutination est "visible". La technique de réalisation du test a été standardisée par le fabricant, mais il existe toujours une variation soit dans l'interprétation de la technique, soit dans les conditions extérieures, soit dans le respect plus ou moins strict des durées d'incubation, soit enfin dans la lecture qui demande à différencier une "agglutination" d'une "accumulation".

Pour évaluer la reproductibilité du test, deux types de comparaisons sont faites:

- comparaison des résultats obtenus avec les mêmes sérums, le même technicien, dans le même laboratoire (CIRAD-EMVT-Guyane), à deux jours d'intervalle: la différence obtenue n'est pas significative bien que 6% des 50 sérums ainsi testés aient donné des résultats différents;

- comparaison des résultats obtenus avec les mêmes sérums, des techniciens différents, dans des laboratoires différents, à quelques semaines d'intervalle: les séroprévalences obtenues ne sont pas significativement différentes. En revanche, un tiers à un quart des sérums positifs au Laboratoire de Référence donnent des résultats opposés dans le laboratoire du pays d'origine; de même un tiers à un quart des sérums positifs dans le laboratoire du pays d'origine sont négatifs au Laboratoire de Référence.

Ces variations n'ont pas d'influence sur la prévalence totale mais montrent que le test est peu robuste pour un diagnostic individuel. D'autre part on ne peut exclure de possibles erreurs d'identification des échantillons entre les laboratoires. Enfin, pour une partie des tests effectués au Suriname, les sérums ont été dilués au 1/8, alors que la dilution généralement utilisée est du 1/4. La reproductibilité du test est donc assez moyenne dans les conditions de notre comparaison.

3) ELISA ANTIGENES:

Pour évaluer la reproductibilité du test de détection des antigènes de *Trypanosoma sp.*, deux types de comparaisons sont faites:

- comparaison des résultats obtenus avec les mêmes sérums, le même technicien, dans le même laboratoire (CIRAD-EMVT-Guyane), à quelques jours d'intervalle: la différence obtenue n'est pas significative bien que 6% des 200 sérums ainsi testés aient donné des résultats différents;

- comparaison des résultats obtenus avec les mêmes sérums, des techniciens différents, dans des laboratoires différents, à quelques mois d'intervalle: sur 82 sérums ainsi testés, le pourcentage de positifs obtenus à l'EMVT est de 42 tandis que celui obtenu à l'ILRAD est de 20 et celui obtenu au CIRDES (laboratoire de l'EMVT au Burkina Faso) est de 16. La différence est assez importante, et reflète une sensibilité plus forte avec la technique utilisée au laboratoire de l'EMVT par rapport aux autres laboratoires (ceci est lié à l'utilisation de plaques de microtitration différentes).

B) SPÉCIFICITÉ ET SENSIBILITÉ DES TESTS :

1) TECHNIQUES PARASITOLOGIQUES CLASSIQUES:

a) Test de WOO:

Ce test de détection des trypanosomes n'est pas spécifique puisqu'il ne permet pas l'identification des parasites; sa sensibilité est assez bonne, de l'ordre de 100 à 500

parasites/ml. Il pourrait avantageusement être complété par l'ACP sur sérum qui a la même sensibilité mais qui est parfaitement spécifique.

b) Frottis:

Pour les trypanosomes la sensibilité est très faible, de l'ordre de 10^5 à 10^6 trypanosomes/ml; en revanche la spécificité est bonne, permettant la distinction *T. vivax* / *T. evansi*.

Pour les babésies la sensibilité est très faible étant données les faibles parasitémies rencontrées en zones enzootiques. La spécificité est bonne.

Pour les anaplasmes, la sensibilité et la spécificité sont moyennes, le test est avantageusement complété par la sérologie ELISA (recherche d'antigènes d'anaplasmes).

2) TECHNIQUES SÉROLOGIQUES:

a) Trypanosomes:

Les travaux menés en Guyane Française et à l'ILRAD par notre équipe ont montré que le test de détection des antigènes de *T. evansi* (monoclonal "spécifique" de *T. brucei*) détectent les antigènes du *T. vivax* de Guyane. Ce test a donc été utilisé sur l'ensemble des sérums, pour la détection des antigènes de *Trypanosoma sp.*

Le CATT Test détecte les anticorps dirigés contre *T. evansi*, mais à un moindre degré il réagit également avec ceux dirigés contre *T. vivax* (résultat constaté sur des sérums de moutons expérimentalement infectés avec *T. vivax*). Ce test est donc utilisé pour la détection des infections par *Trypanosoma sp.*

Le test ELISA de détection des anticorps est utilisé pour la détection des infections par *Trypanosoma sp.*

En conclusion, le Card Test reste un test de dépistage de terrain adapté aux zones d'enzootie à *T. evansi*.

Pour *T. vivax*, étant donnée la faible fiabilité du test de détection des antigènes, on utilisera préférentiellement l'ELISA anticorps qui révèle les infections par *Trypanosoma sp.* Aucun de ces tests n'est satisfaisant pour mettre en évidence l'infection active par *T. vivax* ou *T. evansi*. Le recours aux techniques d'ACP est donc nécessaire.

3) ACP:

Les premiers travaux sur sérum montrent que la détection de l'infection active par *Trypanosoma vivax* est possible lorsque la parasitémie est supérieure à 1000 trypanosomes/ml. La spécificité est totale (jusqu'à preuve du contraire aucune réaction croisée n'a été signalée).

Des travaux visant à améliorer la sensibilité sont en cours. Il est souhaitable que ce test atteigne une sensibilité de l'ordre de 10-50 trypanosomes/ml pour être fructueusement utilisé dans les enquêtes épidémiologiques.

Les travaux sur *T. evansi* n'ont pas encore permis de quantifier la sensibilité, mais les premiers résultats semblent être du même type que ceux obtenus avec *T. vivax*.

IV RÉSEAU D'INFORMATION SUR LES HÉMOPARASITOSEES DANS LES GUYANES:

A) FONCTIONNEMENT GÉNÉRAL :

1) ACHEMINEMENTS DES ÉCHANTILLONS

L'acheminement des échantillons reste un point délicat; les sérums sont acheminés par voie aérienne, sous protection du froid (carboglace). Nous avons déploré un temps le

mauvais conditionnement du matériel biologique, mais de gros progrès ont été obtenus dans ce domaine. L'acheminement des échantillons s'est dans l'ensemble bien déroulé, grâce notamment à la compréhension des services douaniers.

2) QUALITE DES PRELEVEMENTS

les échantillons sérologiques sont dans l'ensemble satisfaisants; en revanche, les frottis sanguins provenant du Guyana sont de très mauvaise qualité, alors que les agents ont été formés, et disposent du matériel adéquat.

B) ACTIONS RÉALISÉES:

1) TRADUCTION, DIFFUSION

L'IICA a traduit et diffusé au Guyana et au Suriname deux publications techniques sur les vecteurs des hémoparasitoses, rédigés par le CIRAD-EMVT-Guyane, l'une porte sur les taons, l'autre sur la tique du bétail:

HORSEFLIES OF THE GYUANAS, Biology, Veterinary Significance & Control Methods (33 pages);

THE CATTLE TICK: BOOPHILUS MICROPLUS (24 pages).

2) SÉMINAIRES:

a) Séminaire sur la détection des antigènes des trypanosomes par ELISA:

Mentionné ici pour mémoire, les grandes lignes de ce séminaire sont présentées au paragraphe I, C, a.

b) Séminaire d'épidémiologie:

Le Dr S. VOKATY (IICA) participera au séminaire international d'Épidémiologie de Nairobi en août prochain, afin de présenter les principes et les premiers résultats de l'enquête épidémiologique entreprise en collaboration avec le CIRAD-EMVT.

VII CONCLUSIONS :

La mise en place du Laboratoire de Référence et du Réseau d'Information sur les Hémoparasitoses des Guyanes a apporté toute satisfaction. Si l'acheminement des échantillons entre les pays a parfois été difficile, la relation entre les Services Vétérinaires des trois Guyanes, l'IICA Guyana et Suriname, et le CIRAD-EMVT-Guyane a permis une très fructueuse collaboration. Les laboratoires internationaux impliqués dans le programme ont apporté tout leur soutien, sur les plans de la formation technique, de l'information et de la fourniture en réactifs.

Le volet formation des techniciens des Services Vétérinaires du Guyana et du Suriname a été entrepris avec un succès inégal, généralement dû à une motivation insuffisante. Cette formation sera poursuivie avec d'autant plus d'intérêt que le deuxième volet de formation prévoit un séjour au laboratoire du CIRAD-EMVT-Guyane pour les techniciens les plus performants et motivés.

La traduction et la diffusion des documents techniques du CIRAD-EMVT-Guyane au Guyana et au Suriname a été réalisée avec succès par l'IICA, et la participation aux séminaires ayant trait aux techniques de diagnostic utilisées, à la méthode et aux résultats de l'enquête sont une partie importante du programme, notamment dans l'optique d'une extension du réseau sur d'autres pays d'Amérique du Sud.

Les résultats généraux de l'enquête montrent que l'infestation par les hémoparasites est généralement forte dans le cheptel bovin des Guyanes, avec des séroprévalences de 61 à 68% pour l'anaplasmose et de 30 à 70% pour les trypanosomoses.

La prévalence clinique de ces maladies est faible en Guyane Française, où aucun cas de trypanosomose n'a été enregistré depuis décembre 1989 et environ 30 cas d'anaplasmose sont diagnostiqués chaque année, ajoutés à plus d'une centaine de suspicions non confirmées. Au Guyana et au Suriname, l'impact clinique est beaucoup plus difficile à évaluer puisque les Services Vétérinaires sont très peu présents sur le terrain. La collecte des informations permet toutefois de considérer que, dans certains troupeaux, 20 à 40% des animaux sont cliniquement atteints chaque année (témoignages recueillis au cours de nos missions sur le terrain). Une meilleure connaissance des facteurs favorisant le déclenchement des signes cliniques est nécessaire.

Parmi les raisons pour lesquelles l'impact clinique des hémoparasitoses est plus important dans ces pays figurent l'insuffisante prophylaxie vermineuse et l'absence de traitement des animaux cliniquement atteints d'hémoparasitoses, les insuffisances alimentaires (complémentation en minéraux et vitamines), la carence du diagnostic de laboratoire et la grande importance du cheptel laitier de type européen, plus sensible que le zébu.

Concernant la brucellose, aucun cas positif n'a été détecté au Guyana et au Suriname, ce qui est plutôt rassurant pour les Services Vétérinaires de Guyane Française.

La Leucose Bovine est, par contre, présente, à des taux assez élevés, ce qui reflète la grande importance du cheptel laitier au Suriname et au Guyana. Malheureusement, des taux voisins ont été enregistrés dans plusieurs élevages de Guyane Française, révélant une situation épidémiologique des trois Guyanes assez comparable, au regard de la leucose bovine.

L'enquête entreprise n'est qu'à ses débuts, étant donnée l'importance du cheptel au Suriname (150.000 têtes) et au Guyana (300.000 têtes); ce travail devra être renforcé et poursuivi pendant au moins trois ans pour être mené à bien et fournir des indications fiables sur l'ensemble du territoire étudié. Au terme d'une telle étude, la connaissance de la situation épidémiologique de chaque type d'élevage permettra de donner les principales recommandations pour éviter les ruptures d'immunité où les épidémies dues à ces hémoparasites.

ANNEXES :

ANNEXE I : MÉTHODE GÉNÉRALE DES TESTS ELISA :
 exemple avec le *trapping-ELISA Anaplasma marginale*:

A PREPARATION OF THE REAGENTS FOR TRAPPING-ELISA A. MARGINALE

PBS

| | | | | |
|-----|---------------------------------------|---------------------------------------|---------|-----------------|
| pH | NAH ₂ PO ₄ 0.2M | Na ₂ HPO ₄ 0.2M | NaCl 2M | Distilled water |
| 7.4 | 80ml | 420ml | 75ml | 425ml |

COATING BUFFER: Phosphate Buffered Saline pH 7.4

BLOCKING BUFFER: Skimmed milk 10% in PBS 7.4

WASHING BUFFER: 0,1 % tween 20 in PBS 7.4

DILUTING and CONJUGATE BUFFER: skimmed milk 10 % in PBS tween 0.1 % (washing buffer)

ABTS SOLUTION Distilled water 12.5 ml, ABTS powder 0.27g

H2O2 1% SOLUTION: H2O2 30% Stock solution 500 µl , Distilled water 7.5 ml

B TRAPPING-ELISA: ANAPLASMA MARGINALE

Coating: On fait le coating avec 1µg/puits du monoclonal (173µl de monoclonal à 11,5mg/ml dans 200ml de PBS). Placer 100µl dans chaque puits, laisser reposer une nuit à 4°C.

Blocage: vider, drainer, ajouter 300µl de tampon de blocage dans chaque puits, placer à 37°C pendant 2 heures (sans agiter).

Dilution des sérums: diluer au demi dans le tampon de dilution.

Incubation: transférer les sérums (100 µl/puits) et laisser incuber pendant 30 minutes à 37°C, agiter toutes les 5 minutes.

Blocage: vider, drainer, bloquer avec 300µl/puits de tampon de blocage, placer à 37°C sans agiter.

Conjugué: vider, drainer, ajouter 100 µl de conjugué dilué au 1/1000 dans le tampon de dilution, laisser 30 minutes à 37°C, agiter toutes les cinq minutes.

Lavage: vider, drainer, laver 5 fois, remplir, reposer 15 minutes;
 vider, drainer, laver 5 fois, remplir, reposer 15 minutes;
 vider, drainer.

Substrat: pour 10ml de tampon de substrat
 ajouter 80µl d'H₂O₂ à 1% et 125µl d'ABTS à 2,25%
 Ajouter 100µl de substrat dans chaque puits. Placer à l'obscurité pendant 1 heure, agiter tous les quart d'heure.

Lecture: nettoyer le dessous de la plaque avant d'utiliser le lecteur ELISA, filtre 414 nm.

Interprétation: les échantillons de sérum sont considérés comme positifs si la densité optique enregistrée est plus de deux fois supérieure à celle du sérum de contrôle négatif.

ANNEXE II : MÉTHODE DU CATT TEST:

CATT/T.evansi

CARD AGGLUTINATION TEST FOR TRYPANOSOMIASIS

PRINCIPLE

CATT/T. evansi is an experimental direct agglutination test for detection of antibodies in serum or plasma of infected animals.

The antigen consists of bloodstream form trypanosomes RoTat 1.2, a Variable Surface Antigen Type common to all T. evansi stocks examined hitherto.

The organisms have been fixed, stained and freeze-dried. They are agglutinated by antibodies to the RoTat 1.2 variable antigen itself but also by antibodies to some invariable surface antigen components.

The test is done on a plastic card. Resuspended antigen is mixed with diluted serum or plasma and agitated for 5 minutes. Blue clumping indicates a positive result.

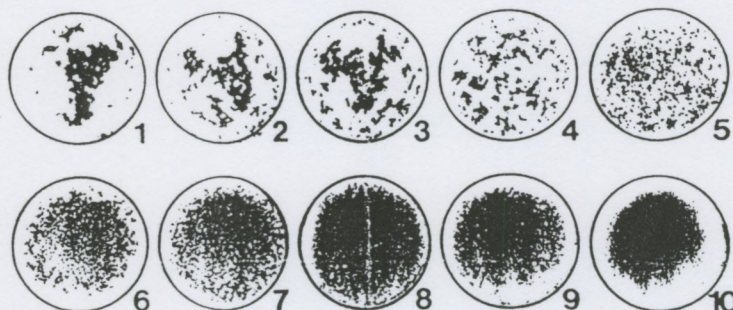
It should be noted that the test is not strictly species-specific. This may complicate the interpretation of positive results in areas where still other species of salivarian trypanosomes occur.

READING OF THE RESULTS

Read the results immediately before removing the card from the turntable. Evaluate the presence of blue granules and score as follows :

| matching figures | score | |
|------------------|-------|-------------------|
| 1-3 | +++ | strongly positive |
| 4-5 | ++ | |
| 6-7 | + | positive |
| 8 | ± | weakly positive |
| 9-10 | 0 | negative |

Note The positive control should give a +, the negative control a 0 result.



INTERPRETATION

At the present stage, CATT/T. evansi should be considered as an experimental test requiring further evaluation of sensitivity and specificity. Results should be confronted with clinical, parasitological and other serological data.

The optimal screening dilution (in general 1/4 or 1/8) may vary from one host species to another.

The test may be positive in case of infection with salivarian trypanosome species other than T. evansi.

In cured animals the test probably remains positive for a long time.